

RECEIVED  
CENTER 1600/2800  
FEB -7 PM 3:56

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Patent Application of )  
Yoshikatsu KODAMA et al. ) Group Art Unit: 1653  
Application No.: 09/833,637 ) Examiner: C. Kam  
Filed: April 13, 2001 ) Confirmation No.: 3072  
For: GLYCOPROTEIN HAVING ) ~~VIA HAND CARRY TO EXAMINER~~  
INHIBITORY ACTIVITY AGAINST )  
HELICOBACTER PYLORI )  
COLONIZATION )

**SUPPLEMENTAL REPLY TRANSMITTAL LETTER**

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Enclosed is a Supplemental Reply for the above-identified patent application.

- ☐ A Petition for Extension of Time is also enclosed.
- ☐ A Terminal Disclaimer and a check for ☐ \$55.00 (248) ☐ \$110.00 (148) to cover the requisite Government fee are also enclosed.
- ☒ Also enclosed is Photocopy of Japanese Priority Document (JP 2000-113913).
- ☐ Small entity status is hereby claimed.
- ☐ Applicant(s) request continued examination under 37 C.F.R. § 1.114 and enclose the ☐ \$370.00 (279) ☐ \$740.00 (179) fee due under 37 C.F.R. § 1.17(e).
- ☐ Applicant(s) previously submitted \_\_, on \_\_, for which continued examination is requested.
- ☐ Applicant(s) request suspension of action by the Office until at least \_\_, which does not exceed three months from the filing of this RCE, in accordance with 37 C.F.R. § 1.103(c). The required fee under 37 C.F.R. § 1.17(i) is enclosed.
- ☐ A Request for Entry and Consideration of Submission under 37 C.F.R. § 1.129(a) (146/246) is also enclosed.
- ☒ No additional claim fee is required.

☐ An additional claim fee is required, and is calculated as shown below:

AMENDED CLAIMS					
	NO. OF CLAIMS	HIGHEST NO. OF CLAIMS PREVIOUSLY PAID FOR	EXTRA CLAIMS	RATE	ADDT'L FEE
Total Claims	15	MINUS 20=		× \$18.00 (103) =	0.00
Independent Claims	3	MINUS 3 =		× \$84.00 (102) =	
If Amendment adds multiple dependent claims, add \$280.00 (104)					
Total Amendment Fee					
If small entity status is claimed, subtract 50% of Total Amendment Fee					
<b>TOTAL ADDITIONAL FEE DUE FOR THIS AMENDMENT</b>					<b>\$0.00</b>

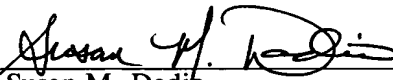
☐ A claim fee in the amount of \$\_\_\_\_\_ is enclosed.

☐ Charge \$\_\_\_\_\_ to Deposit Account No. 02-4800.

The Commissioner is hereby authorized to charge any appropriate fees under 37 C.F.R. §§ 1.16, 1.17, 1.20(d) and 1.21 that may be required by this paper, and to credit any overpayment, to Deposit Account No. 02-4800. This paper is submitted in duplicate.

Respectfully submitted,

BURNS, DOANE, SWECKER & MATHIS, L.L.P.

By:   
Susan M. Dadib  
Registration No. 40,373

P.O. Box 1404  
Alexandria, Virginia 22313-1404  
(703) 836-6620

Date: February 7, 2003

Attorney's Docket No. 011900/309

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of

Yoshikatsu KODAMA et al.

Application No.: 09/833,637

Filed: April 13, 2001

For: GLYCOPROTEIN HAVING  
INHIBITORY ACTIVITY AGAINST  
HELICOBACTER PYLORI  
COLONIZATION

)  
)  
)  
)  
) Group Art Unit: 1653

) Examiner: C. Kam

) Confirmation No. 3072

) **VIA HAND-CARRY TO EXAMINER**  
)

Patent

RECEIVED

1600/2900

03 FEB -7 PM 3:56

**SUPPLEMENTAL REPLY**

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

Sir:

In further response to the Official Action mailed on October 22, 2002, and the Amendment and Reply filed January 22, 2003, applicants hereby provide a photocopy of the certified Japanese priority document (JP 2000-113913) as requested by the Examiner.

Applicants properly filed a Claim for Convention Priority, along with the certified copy of the Japanese priority document, in the United States Patent and Trademark Office on June 6, 2001. However, in the October 22, 2002 Official Action, the Examiner requested applicants to provide a photocopy of the priority document since the certified copy was apparently missing from the file.

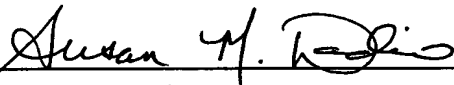
In the event that there are any questions relating to this submission, or the application in general, it would be appreciated if the Examiner would telephone the

Application Serial No. 09/833,637  
Attorney's Docket No. 011900-309

undersigned attorney concerning such questions so that prosecution of this application may  
be expedited.

Respectfully submitted,

BURNS, DOANE, SWECKER & MATHIS, L.L.P.

By:   
Susan M. Dadio  
Registration No. 40,373

P.O. Box 1404  
Alexandria, Virginia 22313-1404  
(703) 836-6620

Date: February 7, 2003

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 4月14日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-113913

出 願 人

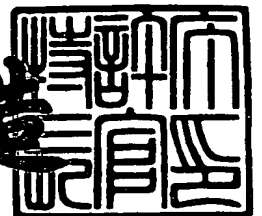
Applicant(s):

株式会社ゲン・コーポレーション  
日清製粉株式会社

2001年 4月20日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3033309

【書類名】 特許願  
【整理番号】 G1X61P  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 A61K 35/12  
A23L 1/03

## 【発明者】

【住所又は居所】 岐阜県岐阜市佐野 8 3 9 番地の 1 株式会社ゲン・コー  
ポレーション免疫研究所内

【氏名】 兒玉 義勝

## 【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡 5 丁目 3 番 1 号 日清製粉株  
式会社 ファインケミカル研究所内

【氏名】 木村 修武

## 【特許出願人】

【識別番号】 000129976

【住所又は居所】 岐阜県岐阜市折立 2 9 6 番地 1

【氏名又は名称】 株式会社ゲン・コーポレーション

## 【特許出願人】

【識別番号】 000226998

【住所又は居所】 東京都千代田区神田錦町一丁目 2 5 番地

【氏名又は名称】 日清製粉株式会社

## 【代理人】

【識別番号】 100081352

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋本町 4 丁目 4 番 2 号東山ビル 広瀬  
内外特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 広瀬 章一

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 000365

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9206480

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ヘリコバクター・ピロリ定着阻害作用を有する糖タンパク質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 糖タンパク質含有物質から、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的吸着を利用した方法により分離精製して得られる、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質。

【請求項 2】 ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的吸着を利用した方法が該ウレアーゼを固定化したカラムを用いるアフィニティークロマトグラフィーである、請求項 1 記載の糖タンパク質。

【請求項 3】 カラムに固定化するヘリコバクター・ピロリのウレアーゼが組換え型ウレアーゼである請求項 2 記載の糖タンパク質。

【請求項 4】 糖タンパク質含有物質が牛乳汁の乳清由来である、請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の糖タンパク質。

【請求項 5】 糖タンパク質含有物質が牛乳汁乳清から得た高分子量乳清タンパク質濃縮物である、請求項 4 記載の糖タンパク質。

【請求項 6】 糖タンパク質含有物質が鶏卵卵白から得た高分子量卵白タンパク質濃縮物である、請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の糖タンパク質。

【請求項 7】 請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の糖タンパク質を有効成分として含むヘリコバクター・ピロリ定着阻害剤。

【請求項 8】 請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の糖タンパク質を有効成分として含む消化性潰瘍の予防剤および治療剤。

【請求項 9】 請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の糖タンパク質を添加した、消化性潰瘍の予防または改善のための食品。

【請求項 10】 請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の糖タンパク質および胃酸分泌抑制剤を有効成分とするヘリコバクター・ピロリ定着阻害剤。

【請求項 11】 請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の糖タンパク質および胃酸分泌抑制剤を有効成分とする消化性潰瘍予防剤および治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】



## 【発明の属する技術分野】

本発明は、消化性潰瘍の発生に関与するヘリコバクター・ピロリを胃内から排除しうる糖タンパク質、この糖タンパク質を含有するヘリコバクター・ピロリ定着阻害剤、ならびにこの定着阻害剤を含有する医薬および食品に関する。

## 【0002】

## 【従来の技術】

現在、消化性潰瘍の根治的治療にはヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori* : 以下Hp)の除菌が不可欠であると考えられており、その除菌方法として以下に説明するように抗生物質と胃酸分泌抑制剤との併用方法が広く提唱されている。

## 【0003】

Hp は、一端に数本の鞭毛(flagella)を持つ、螺旋型をしたグラム陰性桿菌で、ヒトの胃粘膜に生息する菌である。この菌は、1983年オーストラリアのMarshall, B.J. とWarren, J.R.によって胃炎、胃潰瘍患者の胃生検材料から高率に検出されることが報告された。当時は形態および増殖性状からカンピロバクターに類似していたので、カンピロバクター・ピロリ(*Campylobacter pylori*)と命名された。その後、外膜の脂肪酸組成やリボソームの16S-RNA 配列の相同性がカンピロバクターと大きく相違していることが分かり、新たにヘリコバクター属が設けられて、今日、この菌はHp と呼ばれている。

## 【0004】

以来、疫学的研究から、この菌は胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の起因菌であり、さらには胃癌などの疾患と関連があるとの報告が相次いで発表されている。Hp が一旦胃粘膜に定着すると、感染に対する免疫応答が強い(抗体価が高い)にもかかわらず、除菌されず胃内に生息し続ける。そのため、抗生物質による治療によって完全に除菌できない限り、投薬を中止すると約1ヶ月以内に治療前の感染状態に戻ってしまう。しかも胃内は酸度の高い塩酸によってpHが非常に低く保たれているので、多くの抗生物質は不活化される。このような理由で、Hp の除菌には、胃酸分泌を強力に抑制するプロトンポンプインヒビターと除菌薬(抗生物質)が併用の形で使用されている。しかし、このような抗生物質の長期間投与

は、その副作用に加え、耐性菌の増加という非常に重大な問題が危惧される。

【0005】

特開平11-262731号には、乳脂肪球被膜画分がH pに対する感染防御剤として有効であると記載されているが、その根拠としてはH pの赤血球凝集阻害効果を示されているだけである。しかも、乳脂肪球被膜は種々の成分を含むと記載されており、どの成分が作用するかも不明である。また、Siiri Himro et al, FEMS Immunol. Medical Microbiology 20(1998) 275-281には、胃ムチン、および乳糖タンパク質、具体的にはバターミルクから調製した脂肪球被膜画分がヘリコバクター・ピロリのシアル酸特異的赤血球凝集を阻害することが述べられているが、ヘリコバクター・ピロリの赤血球凝集反応性と胃粘膜細胞への接着とは無関係であるとされている (M.Clyne & B.Drumm, Infection and Immunity, Oct. 1993, p.4051-4057)。従って、上記公報および論文においては、H pの胃粘膜への接着を阻害する物質は開示されていない。

【0006】

さらに、上記の公報および論文においては、H pの感染阻止のための重要な標的となる、H pが胃粘膜に接着する際の接着因子や胃粘膜における受容体は解明されていない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

上述のように、H pを除菌するために、抗生物質を長期にわたり使用すると副作用と共に耐性菌の増加の恐れがある等種々の問題があった。

【0008】

本発明の目的は、消化性潰瘍の発生に關与するH pの胃内での定着を有効に阻害することができ、しかも従来の抗生物質の使用に伴う副作用や耐性菌増加等の欠点を持たず効果的で安全性の高いH pの定着阻害剤を提供することである。また、本発明は消化性潰瘍の改善または予防に有用な医薬や食品を提供するものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

一般に細菌の感染が成立するためには細菌が宿主細胞に接着し、そこで増殖することによって定着することが感染の第一歩となる。細菌が宿主細胞に接着するには接着因子(adhesin)が宿主細胞表面の受容体(receptor)に結合しなくてはならない。細菌の感染部位特異性はこの接着因子と受容体の組合せによって決まる。細菌が宿主細胞に接着する際に、受容体分子が共存すると競合阻止(competitive inhibition)が起こり感染は成立しない。

#### 【0010】

Hpにおいても接着因子とヒト胃粘膜がもつ受容体はいずれもHpの感染阻止の標的分子と考えられる。本発明者等は、先に、Hpの接着機構に関する研究を通して、これまで解明されていなかったHpの接着因子がHpが産生するウレアーゼであることを明らかにした(特開平10-287585号公報)。

#### 【0011】

本発明者等はウレアーゼの胃粘膜への付着を阻止しうる物質を種々検討した結果、牛乳汁糖タンパク質や鶏卵卵白の糖タンパク質等の糖タンパク質が、Hpの菌体表層に局在している接着因子であるウレアーゼに特異的に結合することによって胃内に定着しているHpを排除する機能のあることを見出し、さらに、これらの糖タンパク質含有物質から、ウレアーゼへの特異的結合を利用して分離精製した、Hpのウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を用いれば、少量でも極めて効果的なHp除菌が可能となることを見出し、本発明を完成させた。すなわち、本発明は、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的結合を利用したアフィニティーカラムによりウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を分離精製し、これをヘリコバクター・ピロリ阻害剤として用いるものである。

#### 【0012】

従って、本発明によれば、糖タンパク質含有物質から、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的吸着を利用した方法により分離精製して得られる、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質、この糖タンパク質を有効成分として含むヘリコバクター・ピロリ定着阻害剤および消化性潰瘍の予防剤および治療剤、ならびにこの糖タンパク質を添加した、消化性潰瘍の予防または改善のための食品が提供される。

## 【0013】

上記におけるヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的吸着を利用した方法としては該ウレアーゼを固定化したカラムを用いるアフィニティークロマトグラフィーが好ましい。また、カラムに固定化するヘリコバクター・ピロリのウレアーゼとしては組換え型ウレアーゼを用いることができる。

## 【0014】

## 【発明の実施の形態】

以下に、本発明を詳細に説明する。

本発明では、糖タンパク質含有物質から、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼへの特異的吸着を利用した方法でウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を分離精製する。

## 【0015】

本発明において用いる糖タンパク質含有物質としては、哺乳動物の乳汁、鳥類の卵の卵白、カラザ、卵黄膜、卵黄等の糖タンパク質を含有するものであればよいが、牛乳汁の乳清および鶏卵卵白、特にこれらから得た高分子量乳清タンパク質濃縮物および高分子量卵白タンパク質濃縮物が好適に使用できる。

## 【0016】

糖タンパク質は、糖部分が2～6種類の単糖から構成され、タンパク質と共有結合した複合タンパク質であり、生体内に広く存在する。単糖にはN-アセチル-D-グルコサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン、D-マンノース、D-ガラクトース、L-フコース、シアル酸等がある。糖タンパク質には分子量、分子の形が様々なものが含まれ、また、糖鎖とタンパク質との結合様式からは主にN結合型糖タンパク質とO結合型（ムチン型）糖タンパク質に分けられる。存在する生体内の場所によって糖鎖の種類、分子量、形態が異なり、その機能や生理活性も様々である。

## 【0017】

例えば、牛乳汁に含まれる糖タンパク質には、ラクトフェリン、分泌型IgA、IgG、IgM、遊離の分泌成分(FSC)、ミルクムチンなどがある。また鶏卵卵白に含まれる糖タンパク質には、オボムコイド、オボアルブミン、オボトランスフェ

リン、フォスビチン、オボムチンなどがある。

#### 【0018】

糖タンパク質含有物質の調製は、任意の既知の方法が使用できる。牛乳汁からの調製では、例えば、乳汁から常法により乳脂肪およびカゼインを除去して乳清を得て、これを限外濾過膜等により分画濃縮して高分子量乳清タンパク質濃縮物を得、糖タンパク質含有物質として用いることができる。あるいは乳清からリポタンパク質を除去し、必要に応じて濃縮、透析を行って得られた材料から、セファロースカラム等を用いたゲル濾過、膜処理等により精製して得られた物質を糖タンパク質含有物質として用いることができる。さらに、低分子化ムチンが必要であればプロテアーゼ処理、アルカリ加水分解等の処理を行う。なお、牛乳汁は、初乳、常乳のいずれも利用できる。

#### 【0019】

鶏卵卵白から糖タンパク質含有物質を得るには、例えば次のような方法がある。集めた卵白から濃厚卵白を分離し、超遠心分離によりゲル状部分を回収し、これをさらに超音波処理、ホモゲナイズ等の方法により可溶化し、得られた可溶化物からゲル濾過、膜処理等の方法で糖タンパク質含有物質を調製する。さらに必要であればゲル濾過等の処理により精製してもよい。

#### 【0020】

消化管粘膜や粘膜ゲル層などに存在する糖タンパク質の回収は、糖タンパク質をホモゲナイズや超音波処理により可溶化した後、ゲル濾過やエタノール沈殿により高分子量画分を分離回収する方法が一般的である。糖タンパク質の可溶化は、グアニジン塩酸、尿素、塩溶液、界面活性剤により抽出する方法や、還元剤やプロテアーゼ処理によってもよい。また、糖タンパク質の種類によっては、第4級アンモニウム塩と不溶性複合体を形成させたり、酸性条件下で沈殿させて回収する方法が使用できる。

#### 【0021】

糖タンパク質含有物質の調製に牛乳汁または鶏卵卵白を用いる場合、これらの原料は安価にしかも大量に入手でき、またこれらからの糖タンパク質含有物質の調製は簡便な方法で容易に行うことができる点で有利である。また、牛乳汁から

の調製においては、これまでチーズ等の製造工程で副産物として大量にでるにもかかわらず、有効な利用方法がなく廃棄されていた乳清（ホエー）を用いることもできるので、工業規模で大量に製造することも可能であり、価格的にも実用的にも非常に有利である。

#### 【0022】

また、牛乳汁または鶏卵卵白中の糖タンパク質は安定性が高く、加熱によっても、また低pHにおいてもその生理活性を失わないので、原料からの回収、精製が容易であるばかりでなく、食品や医薬品への配合、加工、貯蔵においても有利である。

#### 【0023】

糖タンパク質含有物質から、H pのウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を分離精製する方法は、ウレアーゼへの特異的吸着を利用する方法であれば何ら限定されることなく任意の方法が使用できるが、ウレアーゼを固定化したカラムを用いるアフィニティークロマトグラフィーが好ましい。カラムに固定化するウレアーゼとしては組換え型ウレアーゼを利用するのが、大量に均質なウレアーゼを使用できる点で好都合である。

#### 【0024】

組換え型ウレアーゼの調製は常法により行えばよい。例えば、H pのゲノムDNAを抽出し、ウレアーゼ分子をコードする遺伝子をPCR法により増幅し、これを大腸菌用の発現ベクター(pKK233-2等)に既知の方法で組み込む。このベクターを適応する宿主、大腸菌(XLI-Blue等)に導入し、組換え体を得る。この組換え体を培養し、発現したウレアーゼを回収して、組換え型ウレアーゼを調製できる。組換え型ウレアーゼの調製には、酵母、哺乳動物細胞または昆虫細胞等を用いた発現系を利用してもよい。組換え型ウレアーゼの調製は、例えば、Molecular Cloning. A Laboratory Manual (2nd ed.)(Cold Spring Harbor Press)、DNA Cloning 2 (2nd ed.)(IRL Press)等に記載されている。

#### 【0025】

ウレアーゼのカラムへの固定化は、リガンド分子、すなわちウレアーゼ中のアミノ基(-NH<sub>2</sub>)、カルボキシル基(-COOH)、チオール基(-SH) およびヒドロキシル

基(-OH) に結合するリガンド固定化担体、例えばビーズ状に成型したアガロースゲル (Sepharese など) を用いて行うことができる。ウレアーゼ固定化カラムによる分離精製は、糖タンパク質含有物質を含む試料をこのカラムに流した後、非特異的に吸着したタンパク質を洗い流し、次いで、ウレアーゼに特異的に吸着した糖タンパク質を溶出することにより行うことができる。

#### 【0026】

上記方法により、種々の糖タンパク質からウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質のみを効率的に分離精製することができる。こうして得られた糖タンパク質は、以下の実験例で実証されるように、H p の産生するウレアーゼが胃粘膜のムチンに接着するのを効果的に抑制する。ウレアーゼはH p 菌体表面に局在しているので、上記方法で得られたウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質（以下、本発明の糖タンパク質という）は、胃内においてウレアーゼに優先的に結合することにより接着因子であるウレアーゼをマスクしてH p の胃粘膜の受容体への接着を阻止することができる。これは、動物実験においても確認され、本発明の糖タンパク質の胃内におけるH p 除菌効果が認められた。また、本発明の糖タンパク質は、天然物由来であり安全性が高い。従って、本発明の糖タンパク質はH p 定着阻害剤として使用でき、消化性潰瘍等の予防、改善に有用である。

#### 【0027】

本発明の糖タンパク質はH p 定着阻害剤として、医薬や食品に配合して利用することができる。特に、牛乳汁由来または鶏卵卵白由来の糖タンパク質は食経験があるので、食品に配合し、抗H p 作用を有する特定保健用食品、高齢者用食品や病者用食品等の特別用途食品、あるいは抗H p 作用を有する栄養調整食品や健康食品としての利用に有用である。

#### 【0028】

本発明の糖タンパク質を食品に添加して特定保健用食品や特別用途食品として利用する場合、食品へ通常0.005 ～0.5 重量%程度、好ましくは0.01～0.1 重量%添加する。特定保健用食品としては、乳、乳製品、食肉製品、マヨネーズ・ドレッシング類、飲料、アイスクリーム、豆腐、惣菜類、佃煮類、アン類、フラワーペースト類、即席めん類、ふりかけ食品類、漬物、粉末スープ類、乾燥スープ

類、菓子類、缶詰、レトルト食品、冷凍用食品等、継続して摂取できるものが好ましいが、その種類は特に限定されない。病者用食品（低ナトリウム食品、低カロリー食品、低タンパク質食品等）としては、スープ、飲料、流動食等に本発明の糖タンパク質を添加して各種形態の食品とすることができる。

#### 【0029】

栄養調整食としては、一例として本発明の糖タンパク質にデキストリン等の賦形剤、カゼインナトリウムなどの粘着剤、必要に応じ、ビタミン類、ミネラル類等の栄養剤、乳化剤、安定剤、香料等を添加し、流動食の形態としうる。

#### 【0030】

本発明の糖タンパク質を健康食品として利用する場合は、この糖タンパク質を有効成分として0.1～3重量%程度含有させ、これに乳糖、トウモロコシデンプン、結晶セルロース、PVP等の賦形剤や結合剤を配合し、必要に応じビタミン類やミネラル等の栄養剤を添加して、細粒、錠剤、顆粒剤等の各種形態に成形して利用することができる。

#### 【0031】

本発明の糖タンパク質を消化性潰瘍の予防剤や治療剤として用いる場合、通常の製剤化方法により、本発明の糖タンパク質をそのままあるいは慣用の添加剤と共に、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、液剤などの経口用製剤とすることができる。添加剤には、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、抗酸化剤、着色剤、矯味剤などがあり、必要に応じて使用する。

#### 【0032】

賦形剤としては、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、寒天、軽質無水ケイ酸、ゼラチン、結晶セルロース、ソルビトール、タルク、デキストリン、デンプン、乳糖、白糖、ブドウ糖、マンニトール、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、リン酸水素カルシウム等が使用できる。

#### 【0033】

結合剤としては、例えば、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、エタノール、エチルセルロース、カゼインナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、寒天、精製水、ゼラチン、デンプン、トラガント、乳糖、ヒドロキシセル



ロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等が挙げられる。

#### 【0034】

崩壊剤としては、例えば、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、結晶セルロース、デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ等が挙げられる。

#### 【0035】

滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油、ショ糖脂肪酸エステル、ロウ類等が挙げられる。

#### 【0036】

抗酸化剤としては、トコフェロール、没食子酸エステル、ジブチルヒドロキソトルエン (BHT)、ブチルヒドロキシアニソール (BHA)、アスコルビン酸等が挙げられる。

#### 【0037】

さらに、必要に応じてその他の添加剤や薬剤、例えば制酸剤（炭酸水素ナトリウム、炭酸マグネシウム、沈降炭酸カルシウム、合成ヒドロタルサイト等）、胃粘膜保護剤（合成ケイ酸アルミニウム、スクラルファート、銅クロロフィリンナトリウム等）や消化酵素（ビオジアスターゼ、リパーゼ等）を加えてもよい。

#### 【0038】

消化性潰瘍の予防剤または治療剤の投与は経口により行い、投与量は成人1日当たり本発明の糖タンパク質として通常2～30mg（乾物量）、好ましくは5～20mgである。

#### 【0039】

また、本発明の糖タンパク質を含有する消化性潰瘍の予防剤もしくは治療剤は、胃酸分泌抑制剤を併用することにより一層その効果を高めることができる。使用できる胃酸分泌抑制剤としては、ファモチジン、ニザチジン、ロキサチジン、ラニチジン、シメチジン等のH<sub>2</sub>ブロッカーや、オメプラゾール、ランソプラゾール、ラベプラゾールナトリウムなどのプロトンポンプインヒビターがある。胃酸

分泌抑制剤の投与量は成人 1 日当たり 20～30mg が好ましい。

#### 【0040】

以下に、本発明を詳細に説明するために実施例を示すが、本発明はそれらによって限定されるものではない。

#### 【0041】

##### 【実施例】

##### 〔実施例 1〕

##### (1) ヘリコバクター・ピロリの組換え型ウレアーゼの調製

Hp の TU130 株のゲノム DNA を抽出し、ウレアーゼ分子をコードする DNA を PCR 法により増幅した。増幅したウレアーゼ遺伝子を発現ベクター pKK233-2 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) に組み込み、ウレアーゼ発現用ベクターを得た。このベクターを大腸菌 XL1-Blue に取り込み、ウレアーゼ発現用大腸菌を得た。この大腸菌をアンピシリンを 100  $\mu$ g/ml の濃度で添加した 1.0L の LB 培地で 37°C、100rpm で振盪培養し、菌が対数増殖期に入ったところで、発現を誘発するためにイソプロピル- $\beta$ -D-チオガラクトピラノシド (IPTG) を 0.5mM の濃度で添加し、さらに同一条件で一晩振盪培養した。得られた培養液を 4,000 $\times$ g で 20 分 (+4°C) 遠心し、大腸菌の菌体を得た。

#### 【0042】

この菌体を、菌体破碎用トリス緩衝液 (50mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM NaCl, 1mM EDTA) に懸濁した後、リゾチームを 0.1mg/ml の濃度で添加し、氷中にて 30 分間放置した。次いで、懸濁液を -80°C で 1 時間以上凍結した後、室温で融解させた。次いで、超音波で処理した後、TritonX-100 を 1% の濃度で添加し、30,000 $\times$ g で 30 分 (+4°C) 遠心し、組換え型ウレアーゼの封入体を得た。

#### 【0043】

これらの封入体を、封入体洗浄用緩衝液 (0.1% SDS, 1.0% TritonX-100, 1.0% デオキシコール酸ナトリウムを含む 50mM Tris-HCl (pH8.0), 150mM NaCl, 1mM EDTA) に懸濁した後、30,000 $\times$ g で 10 分 (+4°C) 遠心し、沈殿した封入体についてこの洗浄をさらに 2 回繰り返した。次に、これらの封入体を可溶化するために、8M 尿素溶液 (8M 尿素, 50mM Tris-HCl (pH8.0), 1mM EDTA, 1mM DTT) に懸濁した後

、室温で1時間静置した。次いで、この懸濁液を30,000×g で30分 (+4℃) 遠心した後、上清を100 倍容量の1mM EDTA加20mMリン酸緩衝液(pH6.5) で透析することにより、ウレアーゼの立体構造を再生させ、組換え型ウレアーゼ精製用試料を得た。

#### 【0044】

上記の組換え型ウレアーゼを精製するために、硫酸化セルロファイン-m (チッソ社製) をゲルの10ベット容量の1mM EDTA加20mMリン酸緩衝液(pH6.5) で平衡化した。次いで、上記ウレアーゼ精製用試料50mlのpHを6.5 に再調整し、上記1mM EDTA加20mMリン酸緩衝液(pH6.5) で平衡化された硫酸化セルロファイン-mに流した後、1mM EDTA加20mMリン酸緩衝液(pH6.5) を流した。次いで、ウレアーゼを含有するピークの分画を混和した後、pHを5.5 に調整し、予めゲルの10ベット容量の1mM EDTA加20mMリン酸緩衝液 (pH5.5)で平衡化された硫酸化セルロファイン-mに流した後、20mMリン酸緩衝液 (pH5.5)でゲルを洗浄した。次いで、0.15M NaCl加20mMリン酸緩衝液(pH7.4) を流すことにより、ウレアーゼを抽出した。ウレアーゼを含有する分画を混合し、100 倍容量の蒸留水で透析後、凍結乾燥で組換え型ウレアーゼ粉末を得た。得られた組換え型ウレアーゼはSDS-PAGEおよびウエスタン・ブロッティングにより、ヘリコバクター・ピロリの天然型ウレアーゼと同様のものであることを確認した。

#### 【0045】

##### (2) ヘリコバクター・ピロリ組換え型ウレアーゼ固定化カラムの作製

NHS-activated Sepharose 4 Fast Flow(アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)2g を、約50mlの1mM 塩酸に懸濁し、室温で約15分間膨潤させた。グラスフィルター上で吸引濾過した後、10倍容量の1mM 塩酸で2回洗浄した。次いで、ゲルを50mlのカップリング用緩衝液(0.1M NaHCO<sub>3</sub>, 0.5M NaCl, pH8.8) 50mlに懸濁させ、グラスフィルター上で吸引濾過した。次いで、上記(1) で製造した、精製組換え型ウレアーゼ粉末10mgをカップリング用緩衝液10mlに溶解し、直ちにゲルと混合した後、振盪機でゆっくりと攪拌しながら、4℃で一晩反応させた。

#### 【0046】

次いで、吸引濾過で反応液を除去し、ブロッキング用緩衝液 (0.2Mグリシン、

pH8.3)に懸濁し、軽く振盪しながら4℃で一晩、残りの反応基をブロックした。次いで、グラスフィルター上で吸引濾過した後、カップリング用緩衝液50ml、洗浄用緩衝液(0.1M酢酸, 0.5M NaCl, pH4.0) 50ml、0.5M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH7.5) 100mlで順に洗浄した。次いで、上で得たゲルを約5倍容量の0.5M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH5.5)に懸濁し、直接カラムに流し込んで充填した。カラムを低温室に移し、3ベット容量の0.1M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH5.5)で平衡化し、これを本発明の糖タンパク質分離用ヘリコバクター・ピロリ組換え型ウレアーゼ固定化カラムとして用いた。

#### 【0047】

##### (3) 生乳汁の乳清からの高分子量乳清タンパク質濃縮物の調製

常乳20Lを乳脂肪を除去するために2,000×gで15分(+4℃)遠心し、その上清を得た。次に、カゼインを除去するため1Mの酢酸をpHが4.6になるまで滴下し、室温に1時間静置し、その後遠心してカゼインを除去し牛乳汁の乳清を得た。次に、この乳清のpHを6.0に調整した後、分画分子量100万Daの限外濾過膜で20倍に分画濃縮し、高分子量乳清タンパク質濃縮物を得た。

#### 【0048】

##### (4) 鶏卵卵白からの高分子量卵白タンパク質濃縮物の調製

白色レグホン種鶏の産卵1週間以内の無精卵50個から卵白のみを集め、フルイにかけ濃厚卵白を分離した。さらに、これをメンゼル緩衝液(pH9.5、イオン強度=0.01)に懸濁し、10W, 9kHz(+2℃)で10分間超音波処理することにより可溶化した。次いで、この可溶化物を分画分子量30万Daの限外濾過膜で20倍に分画濃縮し、高分子量卵白タンパク質濃縮物を得た。

#### 【0049】

##### (5) ウレアーゼ固定化カラムによるウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質の分離

上記(3)および(4)で製造した高分子量乳清タンパク質濃縮物および高分子量卵白タンパク質濃縮物の各1Lをとり、そのpHを5.5に調整した。以下の操作はすべて低温室で行った。上記(2)で作製したウレアーゼ固定化カラムを予め10ベット容量の0.1M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH5.5)で平衡化した。次に、上記の

各試料液をこのカラムに流した後、ゲルの10ベット容量の0.5M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH5.5) をカラムに流し、非特異的に吸着したタンパク質を洗い流した。次に、0.5M NaCl 加20mMリン酸緩衝液(pH7.4) を流すことにより、カラムのウレアーゼに特異的に結合した糖タンパク質を溶出し、100 倍容量の蒸留水で透析後、凍結乾燥によりヘリコバクター・ピロリのウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質、すなわち本発明の糖タンパク質をそれぞれ約 1 g ずつ得た。

#### 【0050】

##### 〔実験例1〕インビトロ実験

上記実施例の(3) および(4) で得た高分子量乳清タンパク質濃縮物および高分子量卵白タンパク質濃縮物と、上記実施例の(5) で製造した本発明の糖タンパク質を用いて、Hpが産生するウレアーゼの胃粘膜への接着阻害効果をインビトロ実験系において検討した。

#### 【0051】

##### (実験材料および方法)

本発明者等は、先に、Hpの接着因子がHpが産生するウレアーゼであることを見出している。このウレアーゼは胃粘膜のムチンに結合するので、ウレアーゼの接着試験、およびウレアーゼ接着抑制試験に用いる豚胃ムチンを以下のようにして調製した。

#### 【0052】

##### 豚胃ムチンの調製

約2ヶ月齢の健康な豚を屠殺し、胃部を摘出し、内部に0.1Mリン酸塩+0.15M NaCl+5mM N-エチルマレイミド(NEM) +1mM フェニルメチルスルホニルフルオリド(PMSF)+1mM EDTA含有PBS(pH7.4)を加えて洗浄した。胃を切開し、粘膜を削り取り、上記の緩衝液に浮遊させた。この粘膜浮遊液を氷冷しながらポリトロンホモゲナイザーを用いて均一にした。これを15,000×gで遠心し上清を得た。この上清を25,000×gで再び遠心し、上清を回収し、蒸留水で透析した後、凍結乾燥して粗精製胃ムチンを得た。次いで、この乾燥粗精製胃ムチンをPBS(pH6.8) (6M塩酸グアニジンおよびプロテアーゼインヒビター(5mM NEM, mM PMSF, 1mM EDTA を含む) に溶解し、これを塩化セシウム密度勾配(1.5g/ml) に重層し、34,0

00×gで48時間遠心した。シアル酸含有分画の検出はニトロセルローズ膜ブロッキングと過ヨウ素酸シフ試薬による染色によって行った。発色した分画をプールし、再び塩化セシウム密度勾配に重層して遠心した。染色陽性分画をプールし、凍結乾燥した。次いで、0.1Mリン酸緩衝液(0.1M NaCl含有、pH6.8)で平衡化したセファロースCL-4B カラムを通してゲル濾過を行い、分画した。PAS 染色陽性で、蛋白濃度の高い分画をプールし、PBS(pH6.8)で透析し、精製豚胃ムチンを得た。これを使用時まで-80℃に保存した(精製豚胃ムチン)。なお、精製豚胃ムチンはSDS-PAGEの結果、66kDの糖タンパク質であることを認めた。

### 【0053】

#### 豚胃ムチンへのウレアーゼ接着試験

ウレアーゼ接着試験用マイクロプレートは次のようにして作製した。96ウェルマイクロプレートの各々のウェルに豚胃ムチン(1.27mg/ml)をウェル当たり50μlずつ加え、4℃で一晩静置することによって固相化した。使用時には各々のウェルに3%BSAを加えて37℃で60分間反応させることによってブロッキングした後、0.05%ツイン20加PBSで3回洗浄したプレートをウレアーゼ接着試験に供した。

### 【0054】

上記で作製したマイクロプレート上の固相化された豚胃ムチンへのウレアーゼ接着試験は次のように行った。HpTU130株より調整した天然型ウレアーゼおよび実施例1の(1)で調整した組換え型ウレアーゼをビオチン化した後、pH域の異なる接着培地(pHは予め2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0および6.5に調整しておく)を用いて最終濃度が7.0 μg/mlとなるように希釈し、前述のムチン固相化マイクロプレートの2穴ずつに加え、37℃で60分間感作した。次に、各々のウェルに接着したウレアーゼ量を測定するため、ストレプトアビジンHRPを各々のウェルに加え、37℃で60分間反応させた。次いで、基質としてオルトフェニレンジアミン2塩酸および過酸化水素水を加え反応させた。反応停止液には3N硫酸を用いた。なお、ランニングプレートには2倍段階希釈した既知量のビオチン化ウレアーゼを置いて、その検定曲線から未知量のサンプルを測定した。

## 【0055】

ウレアーゼ接着抑制試験

本発明の糖タンパク質〔実施例1の(5)〕、高分子量乳清タンパク質濃縮物〔実施例1の(3)〕および高分子量卵白タンパク質濃縮物〔実施例1の(4)〕を用いてウレアーゼ接着抑制試験を行った。まず、種々の濃度に調整した試料とビオチン化豚胃ムチンとを混合し、ウレアーゼを固相化した96ウェルプレートのウェルに移し、37℃で60分間感作した。その後マイクロプレートのウェルを接着培地(pH4.0)で5回洗浄し、各々のウェルを65℃10分間加熱することによって固定した。固定した各々のウェルを接着培地(pH7.0)で1回洗浄し、ウレアーゼに接着したビオチン化豚胃ムチンを検出するため、各々のウェルにストレプトアビジンHRPを加えた後、前述のELISAにより測定した。

## 【0056】

(結果)

精製豚胃ムチンに対するウレアーゼの接着パターン

図1に示すように豚胃ムチンに天然型および組換え型ウレアーゼは特異的に接着し、この接着パターンはpHに依存している。pH3.0領域でのウレアーゼ接着反応は胃粘膜におけるHpの定着性を反映していると考えられ、このpH域でウレアーゼの接着が阻止できる物質はHpの胃内定着を阻止する機能があると考えられる。また、組換え型ウレアーゼは天然型と同様の接着性を示すため、組換え型ウレアーゼ固定化カラムにより精製された本発明の糖タンパク質は、Hpのウレアーゼをマスクし、胃内定着を阻止する物質であると考えられる。

## 【0057】

本発明の糖タンパク質によるウレアーゼ接着阻止

図2に示したように、豚胃ムチンへのウレアーゼの接着は高分子量乳清タンパク質濃縮物および高分子量卵白タンパク質濃縮物、ならびにこれらの各々より製造した本発明の糖タンパク質によって用量依存的に抑制された。本発明の糖タンパク質による抑制は低濃度においてもほぼ100%であり、かなり高いものであった。ウレアーゼはHp菌体表面に局在しているので、胃内において、これらのウレアーゼ結合性糖タンパク質が菌体のウレアーゼに結合することによって接着因

子であるウレアーゼがマスクされ感染阻止（除菌）が起こりうる。

#### 〔実験例2〕インビボ実験

実験例1の結果をさらに動物実験により確認した。

#### 【0058】

##### （方法）

実験動物としてHp 感染に対して最も高感受性を示すヘアレスマウス(NS: Hr/ICR 系、財団法人動物繁殖研究所、受託番号 IAR-NHI-9701) (ATCC#72024)(Clin. Diagn. Lab. Immunol. 5: 578-582, 1998)を用いた。NSP335株( $1 \times 10^9$  CFU/マウス)をマウスに経口接種して1週間飼育した後、各種濃度で混餌した本発明の糖タンパク質を4週間投与した。また、H<sub>2</sub>ブロッカー（ファモチジン）またはプロトンポンプインヒビター（オメプラゾール）をそれぞれ同時投与する群も設けた。供試マウス数は各群とも10匹とした。投与終了後2週間目に各群のマウスを屠殺し、胃を摘出し、内容物を除去した後、粘膜部分全体をホモゲナイザーで乳剤とし、Hp 検出用材料とした。Hp の検出は乳剤をHp 検出用培地（ボアメディア Hp 分離培地、栄研化学）に接種し、ガスパック法で37°C、5日間培養し、コロニー数を計測することによって行った。

#### 【0059】

##### （結果）

#### Hp 定着マウスにおける本発明の糖タンパク質の除菌効果

図3に示したように、Hp 定着マウスにおいて本発明の糖タンパク質は濃度依存的に胃内のHp を除菌し、その除菌率は最高用量（20  $\mu$ g/ml）では100 %、最低用量（1  $\mu$ g/ml）でも70～75%で、インビトロ実験の結果を反映してかなり高い除菌率であった。なお、対照群はHp に100 % (10/10) 感染していた。これらの実験から、Hp 定着マウスにおいて本発明の糖タンパク質はHp の産生するウレアーゼと優先的に結合することによって接着因子であるウレアーゼをマスクし、感染阻止が起こると考えられる。また、この効果は酸分泌抑制剤との併用により一層高められることが分かった。

#### 【0060】

以下に製造例を示すが、用いる糖タンパク質は、実施例1の(5)で製造した本



発明の糖タンパク質である。

〔製造例1〕食品

(チューインガム)

ガムベース	25.0
炭酸カルシウム	2.0
ソルビトール	54.0
マンニトール	16.0
香料	1.0
糖タンパク質	0.1
水	残量
全量	100(重量%)

(アイスクリーム)

クリーム(脂肪率40%)	33.97
牛乳(脂肪率3.7%)	33.16
無糖脱脂練乳	16.08
砂糖	11.75
コーンシロップ	4.67
安定剤	0.3
糖タンパク質	0.02
全量	100(重量%)

【0061】

〔製造例2〕特別用途食品

(粉末スープ)

調理用豆粉末	67.5
小麦粉	3.9
小麦胚芽	2.5
乾燥酵母粉末	2.5
オニオンパウダー	4.8

肉エキス末	15.5
食塩	0.2
香辛料（ホワイトペパー等）	1.8
調味料（アミノ酸等）	0.2
糖タンパク質	0.1
全量	100(重量%)

（乾燥スープ） 10.0g/200ml

鶏卵	4.0
肉エキス	1.3
オニオンエキス	1.73
キャロットペースト	2.16
昆布エキス	0.1
乳化剤	0.1
食塩	0.2
香辛料（レッドペッパー）	0.2
調味料（アミノ酸等）	0.2
糖タンパク質	0.01
全量	10.0 g

【0062】

〔製造例3〕 健康食品

処方例1（細粒）100g中

糖タンパク質	1 g
乳糖（200M）	59 g
トウモロコシデンプン	35 g
PVP(K-30)	5 g

上記成分をとり、湿式造粒法を用いた通常の方法により細粒を得た。

処方例2（顆粒）100g中

糖タンパク質	2 g
乳糖 (200M)	60 g
トウモロコシデンプン	33 g
PVP(K-30)	5 g

上記成分をとり、押し出し造粒法で通常の方法により顆粒剤を得た。

### 【 0 0 6 3 】

#### 〔製造例 4〕 栄養調整食

##### 流動食 (200ml/パック)

糖タンパク質	0.01
マルトデキストリン	39.0
カゼインNa	13.0
植物油	12.0
ビタミン類	1.0
ミネラル類	1.5
乳化剤	0.2
乳タンパク質	10.3
リン酸Na	1.8
リン酸K	1.2
香料	0.5
安定剤 (カラギーナン)	1.5
水	残量
全量	100(重量%)

##### ドリンク剤 (スープタイプ)

糖タンパク質	0.02
人参 (キャロットペースト)	10.0
生クリーム	12.0
乳糖	1.8
玉葱 (オニオンエキス)	1.5

乳タンパク質末	0.5
乳果オリゴ糖	1.5
コンソメパウダー	0.5
小麦胚芽	0.5
卵殻カルシウム	0.2
乳清カルシウム	0.1
食塩	0.2
乳化剤	0.2
水	残量
全量	100(重量%)

## 【0064】

## 〔製造例5〕 医薬品

## 処方例1（細粒剤）1.5kg 中

糖タンパク質	15 g
乳糖	1,100 g
トウモロコシデンプン	340 g
PVP(K-30)	45 g

上記成分をとり湿式造粒法で造粒し、乾燥後、通常の方法により細粒を得た。

## 処方例2（錠剤）

1.糖タンパク質	15 g
2.乳糖	400 g
3.トウモロコシデンプン	150 g
4.結晶セルロース	210 g
5.PVP(K-300)	25 g
6.ステアリン酸マグネシウム	10 g

上記1～5の成分をとり、湿式造粒法で顆粒を製造し、その後ステアリン酸マグネシウムを混ぜ、打錠末を得た。この粉末を用い、1錠270 mg重量の錠剤を製造した。

## 【0065】

処方例3 (顆粒剤) 1.5kg 中

糖タンパク質	20 g
乳糖 (200M)	950 g
トウモロコシデンプン	480 g
PVP(K-30)	50 g

上記成分をとり均一混合し押出造粒法で造粒し、乾燥後、通常の方法により顆粒剤を得た。

## 【0066】

処方例4 (細粒剤) 1.5kg 中

糖タンパク質	15 g
ファモチジン	20 g
乳糖	1,100 g
トウモロコシデンプン	320 g
PVP(K=30)	45 g

上記成分をとり湿式造粒法で造粒し、乾燥後、通常の方法により細粒を得た。

## 【0067】

処方例5 (錠剤)

1.糖タンパク質	20 g
2.ファモチジン	20 g
3.乳糖	400 g
4.トウモロコシデンプン	135 g
5.結晶セルロース	200 g
6.PVP(K-300)	25 g
7.ステアリン酸マグネシウム	10 g

上記1～6の成分をとり、湿式造粒法で顆粒を製造し、その後ステアリン酸マグネシウムを混ぜ、打錠末を得た。この粉末を用い、1錠270 mg重量の錠剤を製造した。

## 【0068】

## 処方例 6 (顆粒剤) 1.5kg 中

糖タンパク質	20 g
ファモチジン	30 g
乳糖 (200M)	950 g
トウモロコシデンプン	450 g
PVP(K-30)	50 g

上記成分をとり押出造粒法で造粒し、乾燥後、通常の方法により顆粒剤を得た。

【0069】

## 【発明の効果】

上述のように、本発明によれば、安全で優れたHp定着阻害剤およびそれを含む食品や医薬が提供される。本発明においては、Hpの接着因子であるウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を分離精製して用いるので、Hpの胃粘膜への接着を少量で効率的に阻止することができる。従って、Hpによって引き起こされる消化性潰瘍等を、副作用を生じることなく効果的に予防・治療することができる。従来消化性潰瘍の治療に用いられてきた抗生物質とは異なり、耐性菌の問題も生じず、胃内のHpを特異的に除菌しうるものである。また、本発明の糖タンパク質を得るための原料として、安価で大量に入手しうる牛乳汁や鶏卵を用いることもでき、これらから簡便な方法で効果の優れた糖タンパク質を調製しうる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【図1】

ウレアーゼの精製胃ムチンに対する接着パターンを示す図である。

## 【図2】

ウレアーゼ接着抑制率を示す図である。

## 【図3】

Hp定着マウスにおける除菌率を示す図である。

11.11.11  
11.11.11

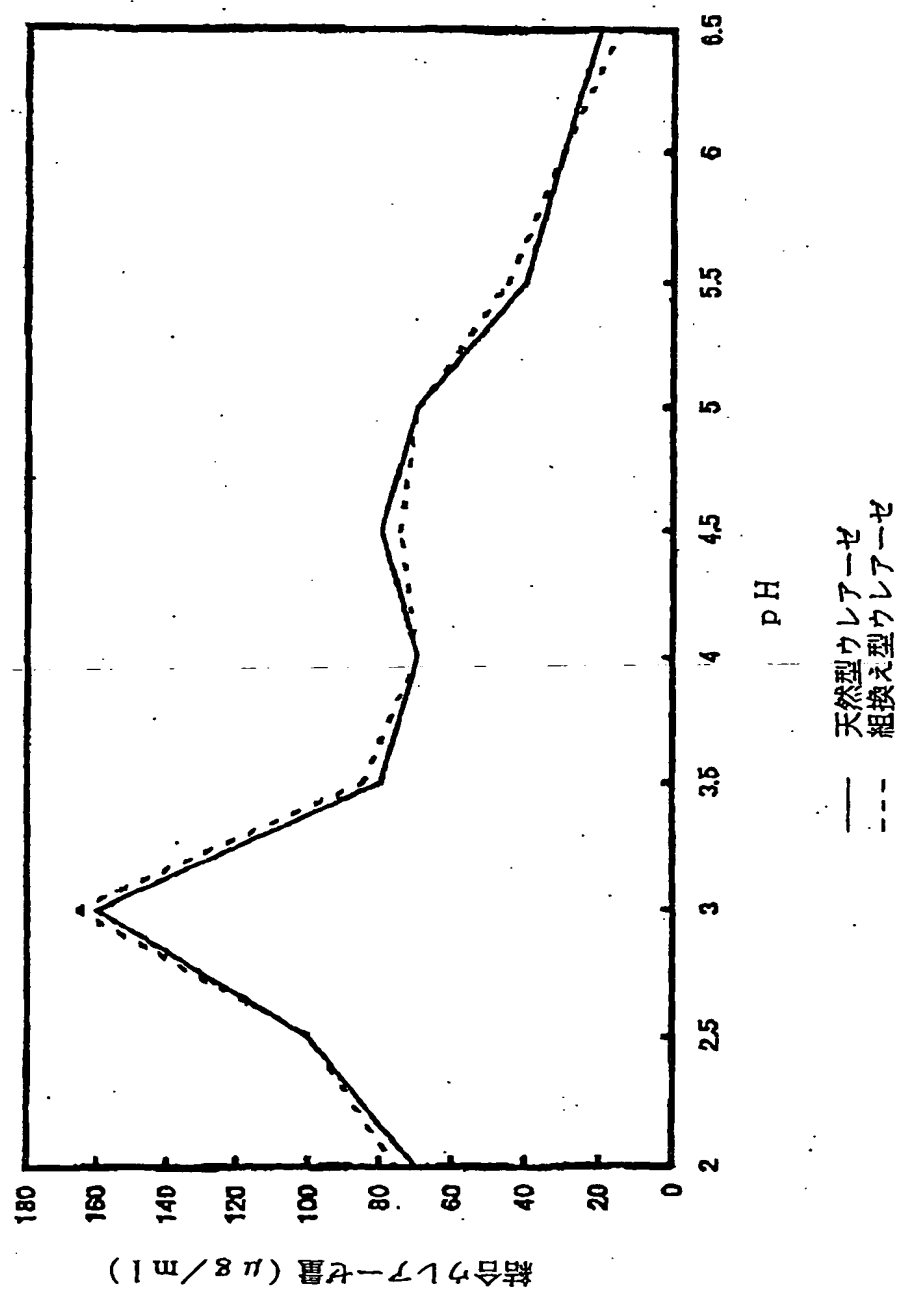
提出日

整理番号=G 1 X 6 1 P

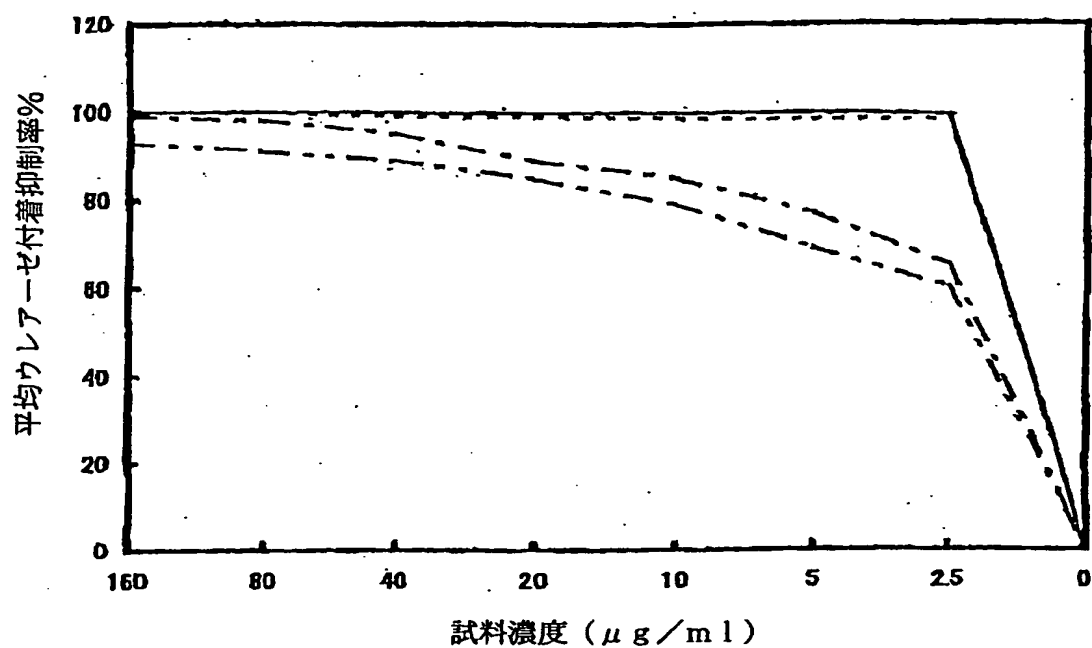
頁: 1/ 3

【書類名】 図面

【図1】



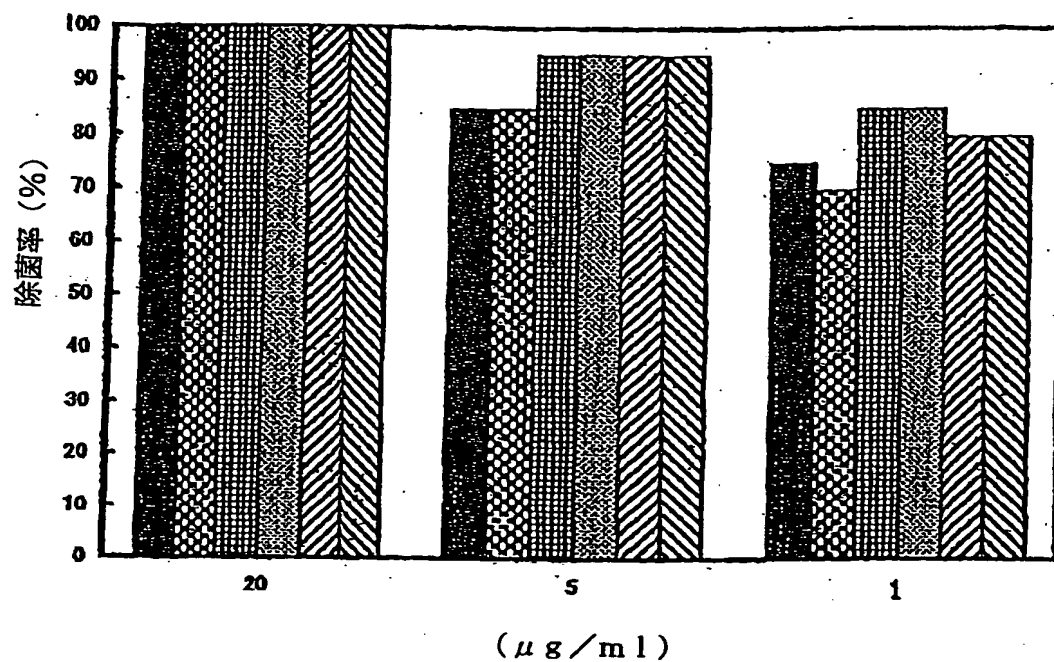
【図 2】



- 牛乳汁糖タンパク質
- 鶏卵卵白糖タンパク質
- 高分子量乳清タンパク質濃縮物
- 高分子量卵白タンパク質濃縮物



【図 3】



- 牛乳汁糖タンパク質
- ▣ 鶏卵卵白糖タンパク質
- ▤ ファモチジン+牛乳汁糖タンパク質
- ▥ オメプラゾール+牛乳汁糖タンパク質
- ▦ ファモチジン+鶏卵卵白糖タンパク質
- ▧ オメプラゾール+鶏卵卵白糖タンパク質

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 安全で効果的なヘリコバクター・ピロリの定着阻害剤を得て、食品に添加して消化性潰瘍等に対する予防、改善用食品や医薬を提供する。

【解決手段】 糖タンパク質含有物質、特に牛乳汁乳清または鶏卵卵白から得た糖タンパク質含有物質より、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼを固定化したカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーで分離精製して、ウレアーゼに特異的に結合する糖タンパク質を得る。この糖タンパク質はヘリコバクター・ピロリの定着を極めて効果的に阻害し、消化性潰瘍の予防または改善用食品や医薬として使用できる。

【選択図】 なし